

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月12日現在

機関番号：11201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23880001

 研究課題名（和文）日長に影響されずに開花する中性植物トマトの花成制御ならびに  
花序形成機構の研究

 研究課題名（英文）Mechanism of floral regulation and inflorescence development in  
day-neutral plant tomato

研究代表者

加藤 一幾 (KATO KAZUHISA)

岩手大学・農学部・助教

研究者番号：30613517

研究成果の概要（和文）：

花成制御に関わると考えられる*SP5G*遺伝子に着目し、トマト'Micro-Tom'に過剰発現させることで、*SP5G*の機能解析を行った。野生型は1ヶ月程度で開花したが、過剰発現体は3倍以上遅延した。過剰発現体は生育が促進されていることから、栄養生長においても重要な役割を果たしていることが考えられた。以上のことから、*SP5G*は花成のリプレッサーとして働き、栄養生長を促進していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

*SP5G* which might be related in floral regulation and inflorescence development have not been fully characterized. In this study, transgenic plants overexpressing *SP5G* were observed using a model cultivar Micro-Tom. The wild type plants came into flower approximately one month after seeding, but the flowering times in the transformants were more than three times as long as those in the wild type plants. The plant growths in the transformants were promoted compare to those in wild type plants. Thus it is suggested that *SP5G* has a role of floral repressor, and promotes vegetative growth.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸学・造園学

キーワード：トマト・花成・フロリゲン

## 1. 研究開始当初の背景

トマトは世界でもっとも生産されている野菜であり、園芸作物として重要である。一方で、果実発達研究のモデル植物であり、花成から花序形成、そして果実形成と果実特有の現象の分子機構を明らかにすることは基礎研究としても重要である。

トマトは日長に関係なく花芽を形成して開花する中性植物であり、長日植物であるシロイヌナズナや短日植物であるイネとは異なる花成制御機構をもっている可能性がある。中性植物は、生育の条件さえそろえば、日長に関係なく、花を咲かせ、果実を得ることができる。この機構を明らかにし、長日植物や短日植物の中性植物化が可能となれば、

自然日長条件下において、周年栽培できるようになる可能性がある。

研究開始当初には、花成制御や花序形成に関与すると考えられる、いくつかの遺伝子をそれぞれ過剰発現させた組換え体 ( $T_0$ ) の作出を試みており、中でも、*SP5G* の過剰発現体の表現型が花成制御や花序形成に関与していることが考えられた。

*SP5G* 過剰発現体 ( $T_0$  植物) は野生型が開花する 7~8 葉時においても開花せず、栄養生長を続けた (第 1 図)。さらに栽培をつづけると開花し、結実した。また、その花序は野生型とは異なり、鈴なり状の形質をもつ系統も存在した (第 2 図)。



第 1 図 野生型 (左) と *SP5G* 過剰発現体 ( $T_0$  世代) (右)。

## 2. 研究の目的

本研究では、花成制御機構や花序形成機構に関与すると考えられる遺伝子を過剰発現させた組換えトマトの解析から、これらの機構の一端を明らかにすることを目的とした。シロイヌナズナの花成制御において、花成ホルモンとして考えられている *FLOWERING LOCUST* (*FT*) 遺伝子群が重要な役割を果たすことが知られている。トマトの *FT* オートログは *SINGLE-FLOWER TRUSS* (*SFT*) であり、*SELF-PRUNING* (*SP*) 遺伝子ファミリーに含まれる。この遺伝子ファミリーには *SFT* と *SP* の他に 4 つの遺伝子が含まれており、その中でも *SFT* と同じクラスターに含まれる遺伝子に *SP6A* と *SP5G* が存在する。*SP6A* は栽培品種では発現しておらず、*SP5G* の機能についてはほとんど明らかとなっていない。本研究では、*SP5G* に着目し、*SP5G* の過剰発現体を作成し、解析を行い、*SP5G* が花成制御や花序形成において果たしている役割について明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 植物材料

NBRP トマト (<http://tomato.nbrp.jp/>) から分譲を受けたトマト (*Solanum lycopersicum* L.) ‘Micro-Tom’ を供試した。Gateway システム (Invitrogen 社) を用いて、CaMV35S プロモーターで *SP5G* を過剰発現させるベクターを構築し、*SP5G* 過剰発現体を作成したものを材料とした。世代を促進し、ホモ化した 3 系統、対照として、導入遺伝子が外れた *Azygous* 系統および野生型を供試した。

### (2) 栽培条件および生育調査

日長 12h (明期 25°C/暗期 20°C) に設定した人工気象器で栽培した。発芽後、ロックウールに移植し、水耕により栽培した。播種 100 日後に主茎長、主茎径、主茎の葉数、第一花房までの葉数、および葉色を調査し、第一花が開花するまでの日数も調査した。

### (3) 発現解析

野生型開花時の野生型および過剰発現体の第 2, 4, 6, 8 葉および野生型は花序を含む茎頂、過剰発現体は茎頂の RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR 法により *SFT* と *SP5G* の発現解析を行った。さらに、過剰発現体開花時においても同様に発現解析を行った。

## 4. 研究成果

*SP5G* 過剰発現体 ( $T_0$  植物) は野生型が開花する 7~8 葉時においても開花せず、栄養生長を続けた (第 1 図)。*‘Micro-Tom’* の野生型は *SP* に変異が入っているため、有限生長である。一方で、*SP5G* 過剰発現体 ( $T_0$  植物) は無限生長を示した (第 1 図)。野生型では開花時において、*SP5G* は花序を含む茎頂では発現していないが、*SP5G* 過剰発現体では植物体全体で発現していることから、過剰発現体では茎頂で発現している *SP5G* が *SP* の機能を補っていることが考えられた。

過剰発現体の世代を促進し、ホモ化した系統について、人工気象器内で栽培し、野生型や *Azygous* 系統と表現型を比べることで、*SP5G* の機能について、より正確に調査した。野生型や *Azygous* 系統はおおよそ播種 30 日後に開花したが、*SP5G* 過剰発現体はさらに栄養生長を続けた。野生型が開花した時点で、過剰発現体は野生型や *Azygous* 系統はよりも葉数が多く、主茎が太かった (第 2 図)。栽培を続けると、過剰発現体の栄養生長は促進され、さらに主茎は太く、長くなり、葉色は濃くなった (第 1 表)。以上のことから、*SP5G* は栄養生長を増強する機能を持っていることが示唆された。



第2図 野生型開花時の野生型(左)とSP5G過剰発現体ホモ系統(右)。播種27日後。

第1表 SP5G過剰発現による表現型への影響

	主茎長 (cm)	主茎径 (mm)	第一花房ま での葉数	葉色 (SPAD)	開花 日数
WT	6.7	3.6	8.0	42.4	27
Azy	7.2	4.1	7.8	40.6	30
OX1	21.3**	7.0**	25.0**	58.7**	112**
OX2	19.0**	6.4**	19.1**	58.6**	96**
OX3	20.7**	7.1**	23.6**	62.5**	108**

t検定により、Azygousと比較して\*\*1%水準で有意差あり、\*5%水準で有意差あり(n=10)

WT: 野生型, Azy: Azygous系統,  
OX1-3: SP5G過剰発現体ホモ系統

一方で、SP5G過剰発現体では、開花までに3ヶ月以上が必要であり、Azygous系統や野生型と比べて、3倍以上の明らかな開花遅延がみとめられた(第3図)。以上のことから、SP5Gは花成制御においてリプレッサーとして働いていることが示唆された。



第3図 SP5G過剰発現体ホモ系統開花時のAzygous系統(左)とSP5G過剰発現体ホモ系統(右)。播種108日後。

野生型の開花時において、SP5Gは根や茎頂ではほとんど発現しておらず、花序直下の第8葉における発現は第2, 4, 6葉の発現よりも弱かった。SP5Gが茎頂において発現していない条件下で花成が誘導されることから、SP5Gが花成制御においてリプレッサーとして働いている説を支持している。

過剰発現体は開花時において、いずれの部位でもSP5Gは強く発現しているが、このとき花房直下の葉のSFTは野生型開花時よりも

強く発現しており、このことが過剰発現体の花成を誘導したか、SFTによる花成とは別の経路で花成が誘導されたことが考えられた。

SFTタンパク質(フロリゲン)は葉で作られて、茎頂に移動することで花成が誘導されることが知られている。SP5Gタンパク質もSFTタンパク質と同じように、移動して花成制御に影響を与えているかどうかについては、現在接ぎ木試験により検討中である。

花序形成はT<sub>0</sub>植物と同じく、鈴なりの形質を持ち、野生型とは異なる傾向にあった。また、一般的な無限成長の形質をもつトマト品種は、第一花序が形成されてから、葉が3枚展開し、次の花序を形成するが、過剰発現体は4枚展開してから次の花序を形成する個体もあり、SP5Gは仮軸性においてもなんらかの役割を持っている可能性が考えられた。花序形成機構や仮軸性におけるSP5Gの機能については今後検討していきたい。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計11件)

- ① 加藤一幾・佐藤和成・金澤俊成・庄野浩資・小林伸雄・立澤文見\* (2013) ダイコン類 (*Raphanus sativus* L.) における根色とアントシアニン. 園学研 2013年2月5日受理, 査読有
- ② 加藤一幾\*・植田稔宏・松本英一 (2013) コマツナのハウス周年栽培における窒素施肥量と可食部硝酸イオン濃度の低減を目的とした窒素診断施肥. 園学研 12: 43-49. 査読有, DOI: 10.2503/hrj.12.43
- ③ 立澤文見・加藤一幾\*・永松義博・庄野浩資・土岐健次郎・斎藤規夫 (2013) *Leschenaultia biloba*, *L. formosa* およびそれらの種間雑種の花色とアントシアニン組成について. 園芸学研究. 12(1): 23-28. 査読あり, DOI: 10.2503/hrj.12.23
- ④ Kazuhisa Kato, Shinichi Maruyama, Tadayoshi Hirai, Kyoko Hiwasa-Tanase, Tsuyoshi Mizoguchi\*, Eiji Goto and Hiroshi Ezura\* (2011) A trial of production of the plant-derived high-value protein in a plant factory: Photosynthetic photon fluxes affect the accumulation of recombinant miraculin in transgenic tomato fruits. *Plant Signaling & Behavior* 6: 1172-1179. 査読有, DOI: 10.4161/psb.6.8.16373.

[学会発表] (計19件)

- ① 加藤一幾\*・吉井貴之・松嶋卯月・武藤由子・金澤俊成・立澤文見・岡田益己 (2013) シイタケ廃菌床を利用した三陸沿岸の農地復興への取り組み (スイートコーン栽培). 園芸学会平成 25 年春季大会. 2013.3.23-24. 東京農工大学小金井キャンパス (東京都)
- ② 石上由佳\*・立澤文見・加藤一幾 (2013) 中性植物トマト‘Micro-Tom’における花成制御遺伝子の解析. 園芸学会平成 25 年春季大会. 2013.3.23-24. 東京農工大学小金井キャンパス (東京都)
- ③ Kazuhisa Kato\*, Yuka Ishigami, Fumi Tatsuzawa (2013) Involvement of SP5G in the floral regulation in a day-neutral plant tomato. International Symposium on Japanese Solanaceae Genomics Initiative 2013. 2013.2.8-9. University of Tsukuba (Ibaraki)
- ④ 尾上美咲・立澤文見・金澤俊成・阿部潤・澤田公司・加藤一幾\* (2012) 低濃度オゾン水によるコマツナおよびトマトの生育促進効果. 園芸学会平成 24 年度秋季大会. 2012.9.22-24. 福井県立大学福井キャンパス (福井県)
- ⑤ 加藤一幾\*・吉井貴之・金澤俊成・松嶋卯月・立澤文見・渡邊学・武藤由子・岡田益己 (2012) シイタケ廃菌床を利用した三陸沿岸の農地復興と園芸振興への取り組み. 園芸学会平成 24 年度東北支部会. 2012.8.21-22. コラッセふくしま (福島県)
- ⑥ 加藤一幾\*・佐藤和成・金澤俊成・小林伸雄・立澤文見 (2012) 市販ダイコン類のアントシアニン HPLC プロフィール. 園芸学会平成 24 年度春季大会. 2012.3.28-29. 大阪府立大学中百舌鳥キャンパス (大阪府)
- ⑦ Kazuhisa KATO\*, Shinichi MARUYAMA, Tadayoshi HIRAI, Kyoko HIWASA-TANASE, Tsuyoshi MIZOGUCHI, Eiji GOTO and Hiroshi EZURA (2011) A trial of production of the plant-derived high-value protein in a plant factory: Photosynthetic photon fluxes affect the accumulation of recombinant miraculin in transgenic tomato fruits. 8th Solanaceae and 2nd Cucurbitaceae Genome Joint Conference. 2011. 2011.11.28-12.2. Kobe Convention Center (Hyogo)

〔図書〕 (計 1 件)

- ① 加藤一幾・金浜耕基 (2013) 観賞園芸学. 235-254. 文永堂出版.

〔その他〕

ホームページ等

<http://news7a1.atm.iwate-u.ac.jp/sosaikaki/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

加藤 一幾 (KATO KAZUHISA)

岩手大学・農学部・助教

研究者番号：30613517